Utjecaj botaničkog podrijetla i vrste nosača na svojstva liofiliziranog meda

Domjanović, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:157496

Rights / Prava: Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

REPOZITORIJ PTFOS PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK dabar

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Food Technology Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Iva Domjanović

UTJECAJ BOTANIČKOG PODRIJETLA I VRSTE NOSAČA NA SVOJSTVA LIOFILIZIRANOG MEDA

DIPLOMSKI RAD

Osijek, prosinac, 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za ispitivanje hrane i prehrane
Katedra za kakvoću hrane
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija
Nastavni predmet: Kontrola kakvoće hrane
Tema rada je prihvaćena na V. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 21.-22. travnja 2022. godine.
Mentor: izv. prof. dr. sc. *Ivana Flanjak*
Pomoć pri izradi: dr. sc. *Veronika Barišić*

Utjecaj botaničkog podrijetla i vrste nosača na svojstva liofiliziranog meda

Iva Domjanović, 0113141447

Sažetak:
Zadatak ovog diplomskog rada bio je ispitati utjecaj različitih nosača (maltodekstrin i kazein) na svojstva liofiliziranih medova. U ispitivanju su korištene tri vrste uniflornog meda (kestenov, bagremov i repičin med) te cvjetni med. Nakon potvrde botaničkog podrijetla ispitivanih uzoraka meda provedeno je sušenje otopina meda (omjer meda i nosača 73:27 i konačne koncentracije vodene otopine med:nosač od 43 % na suhu tvar) postupkom liofilizacije tijekom 48 sati i pri tlaku od 0,250 mbar. Nakon sušenja provedeno je ispitivanje stabilnosti, odnosno higroskopnost prahova, određeni su i udio ukupnih polifenola i ukupna antioksidativna aktivnost FRAP metodom. Antioksidativna aktivnost i udio polifenola bili su u korelaciji s bojom meda. Najveći udio ukupnih polifenola i antioksidativnu aktivnost imali su uzorci kestenovog i liofiliziranog kestenovog meda, dok su najmanji udio imali uzorci bagremovog i liofiliziranog bagremovog meda. Najviši udio fruktoze i najniži udio glukoze imao je bagremov med, dok je repičin med imao najniži udio fruktoze i najviši udio glukoze od ispitivanih uzoraka. Liofilizirani uzorci s kazeinom kao nosačem imali su veći udio vode nakon liofilizacije u odnosu na liofilizirane uzorke istih vrsta meda s dodatkom maltodekstrina kao nosača. Vrsta nosača nije imala utjecaj na higroskopnost ispitivanih liofiliziranih uzoraka meda što je značajno sa tehnološkog aspekta upotrebe liofilizirnog meda u prehrambenoj industriji.

Ključne riječi: med, liofilizacija, nosači, maltodekstrin, kazein

Rad sadrži: 32 stranice
5 slika
5 tablica
0 priloga
39 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

1.	prof. dr. sc. *Đurđica Ačkar*	predsjednik
2.	izv. prof. dr. sc. *Ivana Flanjak*	član-mentor
3.	dr. sc. *Blanka Bilić Rajs*, znan. sur.	član
4.	prof. dr. sc. *Ljiljana Primorac*	zamjena člana

Datum obrane: 19. prosinca 2022.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Food and Nutrition Research
Subdepartment of Food Quality
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program:	**Food Engineering**
Scientific area:	Biotechnical sciences
Scientific field:	Food technology
Course title:	Food Quality Control
Thesis subject	was approved by the Faculty Council of the Faculty of Food Technology Osijek at its session no. V. held on April 21-22, 2022.
Mentor:	*Ivana Flanjak*, PhD, associate prof.
Technical assistance:	*Veronika Barišić*, PhD

Effect of Botanical Origin and Carrier Type on the Properties of Freeze-Dried Honey

Iva Domjanović, 0113141447

Summary:
The aim of this study was to examine the effect of different carriers (maltodextrin and casein) on the properties of freeze-dried honey. Three types of unifloral honey (chestnut, black locust and rape honey) and multifloral honey were used in the test. After confirmation of the botanical origin of the tested honey samples, honey solutions were freeze-dried (honey:carrier ratio 73:27 and final concentration of the aqueous honey:carrier solution of 43% on dry matter) for 48 hours at a pressure of 0.250 mbar. After freeze-drying, the stability test, i.e. the hygroscopicity of the powders, was conducted, the content of total polyphenols and the total antioxidant activity using the FRAP method were determined. Antioxidant activity and the content of polyphenols were correlated with the colour of honey. Chestnut and freeze-dried chestnut honey samples had the highest content of total polyphenols and antioxidant activity, while black locust and lyophilized black locust honey samples had the lowest values. Black locust honey had the highest fructose content and the lowest glucose content, while rape honey had the lowest fructose content and the highest glucose content of the tested samples. Lyophilized samples with casein as a carrier had a higher water content after lyophilization compared to lyophilized samples of the same honey types with the addition of maltodextrin as a carrier. The type of carrier had no influence on the hygroscopicity of the examined lyophilized honey samples, which is significant from the technological aspect of the use of lyophilized honey in the food industry.

Keywords: honey, freeze-drying, carriers, maltodextrin, casein

Thesis contains:
32 pages
5 figures
5 tables
0 supplements
39 references

Original in: Croatian

Defense committee:

1.	*Đurđica Ačkar*, PhD, prof.	chair person
2.	*Ivana Flanjak*, PhD, associate prof.	supervisor
3.	*Blanka Bilić Rajs*, PhD	member
4.	*Ljiljana Primorac*, PhD, prof.	stand-in

Defense date: December 19, 2022.

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek.

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Ivani Flanjak na svim savjetima oko pisanja diplomskog rada, susretljivosti, ohrabrujućim riječima i motivaciji tijekom svih godina studiranja. Zahvaljujem se dr. sc. Veroniki Barišić na susretljivosti i pomoći prilikom izrade ovog rada. Posebno se zahvaljujem Katarini Gal, dipl. ing. čija mi je pomoć i lijepa riječ uvelike olakšala provedbu eksperimentalnog dijela rada!

Najviše se zahvaljujem svojim roditeljima, a posebno mami Ljiljani i sestrama Katarini i Ivoni koji su mi sve ove godine bili bezuvjetna podrška i omogućili mi školovanje. Hvala mojoj obitelji i Dariu što su vjerovali u mene, bili neprestani vjetar u leđa i što nisu dopustili da odustanem kad mi je bilo najteže.

Uspjeli smo!

Ovaj rad sufinancirala je Osječko-baranjska županija projektom Liofilizacija meda u cilju proširenja njegove primjene.

Sadržaj

1. UVOD 2
2. TEORIJSKI DIO 3
   2.1. MED 4
   2.2. BOTANIČKO PODRIJETLO MEDA 5
      2.2.1. Bagremov med, *Robinia pseudacacia* L. 6
      2.2.2. Kestenov med, *Castanea sativa* Mill. 6
      2.2.3. Repičin med, *Brassica napus* L. 7
      2.2.4. Cvjetni med 7
   2.1. LIOFILIZACIJA MEDA 8
      2.1.1. Prednosti liofiliziranog meda 9
      2.1.2. Nedostaci liofiliziranog meda 9
   2.2. NOSAČI 10
      2.2.1. Maltodekstrin 10
      2.2.2. Kazein 11
   2.3. HIGROSKOPNOST MEDA 13
3. EKSPERIMENTALNI DIO 14
   3.1. ZADATAK 15
   3.2. UZORCI MEDA 15
      3.2.1. Određivanje botaničkog podrijetla 15
      3.2.2. Priprema otopina za liofilizaciju 15
   3.3. METODE 16
      3.3.1. Folin-Ciocalteu metoda 16
      3.3.2. FRAP metoda 17
      3.3.3. Određivanje udjela vode nakon liofilizacije meda 17
      3.3.4. Higroskopnost liofiliziranog meda 17
4. REZULTATI I RASPRAVA 18
   4.1. REZULTATI MJERENJA UKUPNIH POLIFENOLA I UKUPNE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI U MEDU I LIOFILIZIRANIM UZORCIMA MEDA 19
   4.2. REZULTATI MJERENJA SASTAVA I UDJELA UGLJIKOHIDRATA U MEDU ODREĐEN HPLC-RI METODOM 22
   4.3. REZULTATI UDJELA VODE U UZORCIMA NAKON LIOFILIZACIJE 23
   4.4. REZULTATI MJERENJA HIGROSKOPNOSTI LIOFILIZIRANOG MEDA 24
5. ZAKLJUČCI 26
6. LITERATURA 28

1. UVOD

Med se od davnina koristi kao prirodni zaslađivač, ali i u medicinske svrhe u apiterapiji, grani alternativne medicine koja koristi med i ostale pčelinje proizvode u liječenju različitih bolesti (Bogdanov i sur., 2008). Zapisi o medu i njegovim benefitima mogu se naći u svim drevnim civilizacijama, od babilonske, drevne Kine, Grčke, preko Rimskog carstva pa sve do naroda Maya (Crane i sur., 1997; Ocampo Rosales, 2013). Zbog higroskopnosti, viskoznosti i drugih specifičnih fizikalnih svojstava, med se ne upotrebljava često u prehrambenoj. Otežano je rukovanje medom, vaganje, čišćenje, a i zauzima velik prostor prilikom skladištenja (Samborska, 2019). Sve navedeno razlog je proizvodnje meda u prahu koji će biti bolja zamjena za med kakav se trenutno nalazi na tržištu, olakšat će se proces proizvodnje, transport i skladištenje. Liofilizacija predstavlja postupak sušenja smrzavanjem gdje se voda uklanja sublimacijom leda iz prethodno zamrznutog proizvoda, odvija se u vakuumu pri odgovarajućoj temperaturi i tlaku. Sam proces je pogodan sa nutritivnog i tehnološkog aspekta jer za posljedicu ima očuvanje hranjivih tvari i maksimalnu iskoristivost svih sastojaka sirovine u našem organizmu. Neke od prednosti liofilizacije su te što je proizvod koncentriraniji zbog uklonjene vode, produžena je trajnost proizvoda, velika je poroznost konačnog proizvoda, minimalan je gubitak hranjivih tvari poput vitamina, proteina, enzima, antioksidanasa i flavonoida (Lovrić, 2003). Zbog problematike ljepljivosti tijekom liofilizacije, visoke higroskopnosti meda i teškog korištenja u radu, dodaju se različiti nosači poput maltodekstrina i dekstina, gume arabike, izolata i koncentrata proteina sirutke te natrijeva kazeinata koji imaju veliki utjecaj na svojstva liofiliziranih medova i čine ih jednostavnijim i lakšim za upotrebu (Samborska, 2019).

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj botaničkog podrijetla i vrste nosača (kazein i maltodekstrin) na udio ukupnih polifenola, ukupnu antioksidativnu aktivnost i higroskopnost liofiliziranog meda.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. MED

Prema Pravilniku o medu (MP, 2015): „Med je sladak proizvod što ga medonosne pčele *(Apis mellifera)* proizvode od nektara medonosnih biljaka ili sekreta živih dijelova biljaka ili izlučevina kukaca koji sišu na živim dijelovima biljaka, koje pčele skupljaju, dodaju mu vlastite specifične tvari, pohranjuju, izdvajaju vodu i odlažu u stanice saća do sazrijevanja. Prema podrijetlu (**Slika 1**) med se dijeli na cvjetni (nektarni) med koji se dobiva iz nektara biljaka, te medljikovac odnosno med nastao od izlučevina kukaca (*Hemiptera*) koji žive na živim dijelovima biljaka ili od sekreta živih dijelova biljaka“.

Od spojeva u medu najzastupljeniji su ugljikohidrati i voda. Od ostalih spojeva prisutne su organske kiseline, vitamini, minerali, elementi u tragovima, pigmenti, fenolni spojevi i hlapivi spojevi (Persano Oddo i Piro, 2004).

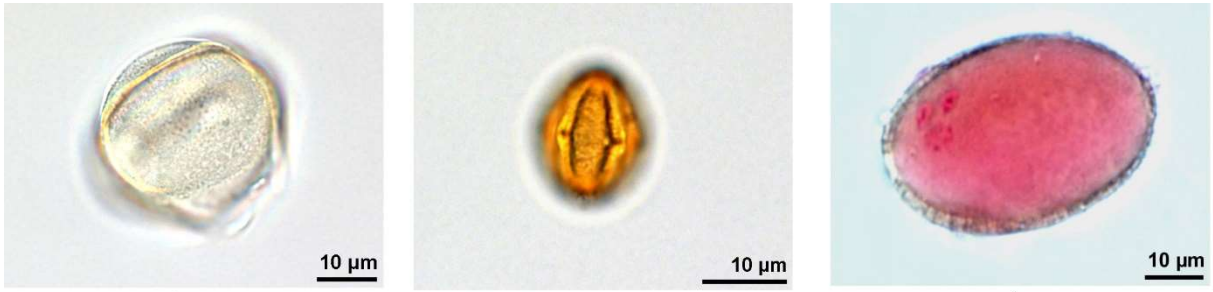


Slika 1 Različite vrste meda (web izvor 1)

2.2. BOTANIČKO PODRIJETLO MEDA

Melisopalinološka (peludna) analiza (mikroskopski pregled) meda je dugo bila glavna metoda za utvrđivanje botaničkog i geografskog podrijetla meda i drugih pčelinjih proizvoda (Alvarez-Suarez, 2017; Crane i sur., 1997). Danas se, osim peludne i senzorske analize te fizikalno-kemijskih analiza, prema dostupnoj literaturi za određivanje botaničkog podrijetla koriste različite instrumentalne tehnike poput infracrvene spektroskopije i nuklearne magnetske rezonancije (NMR), potonja je češće korištena zbog manje invazivnog pristupa uzorcima, relativne lakoće korištenja i brzine obrade podataka (Siddiqui i sur., 2017).

Hyde i Williams su 1944. znanost posvećenu istraživanju peludnih zrnaca i spora gljiva nazvali palinologija, iz koje je nastala melisopalinologija posvećena peludnim zrncima i fungalnim sporama meda i drugih pčelinjih proizvoda. Općenito, peludna zrnca se dijele s obzirom na veličinu, oblik, polarnost, simetriju, boju, sporoderm i dr. (Alvarez-Suarez, 2017).



Slika 2 Peludna zrnca a) bagrema, lat. *Robinia pseudacacia* L. (web izvor 2), b) pitomog kestena, lat. *Castanea sativa* Mill. (web izvor 3), c) uljane repice, lat. *Brassica napus L.* (web izvor 4)

U Republici Hrvatskoj je, osim Pravilnika o medu (MP, 2015) u kojem su definirani zahtjevi za odabrane fizikalno-kemijske parametre kakvoće meda trenutno na snazi i Pravilnik o kakvoći uniflornog meda (MPRR, 2009) u kojem je propisano da se med može dodatno označiti prema biljnoj vrsti, odnosno kao uniflorni med može označiti onaj med koji u netopljivom sedimentu sadrži najmanje 45 % peludnih zrnaca biljne vrste po kojoj je nazvan uz sve senzorske karakteristike važne za biljnu vrstu. No, postoje neki izuzetci (**Slika 2**) kao što su bagremov med koji mora sadržavati mininalno 20 % peludnih zrnaca bagrema (*Robinia pseudoacacia* L.), kestenov med koji mora sadržavati minimalno 85 % peludnih zrnaca pitomog kestena

(Castanea sativa Mill.*),* ili repičin med koji mora sadržavati minimalno 60 % uljane repice *(Brassica napus* L.). Ove tri vrste unflornog meda korištene su u ovom istraživanju.

2.2.1. Bagremov med, *Robinia pseudacacia* L.

Drvo bagrema daje kratkotrajnu, ali najizdašniju pašu u kontinentalnim dijelovima Hrvatske. S obzirom na nadmorsku visinu, cvjetanje je uglavnom u kasno proljeće i rano ljeto, 10 - 12 dana. Prvo počne mediti na nepristupačnijim i nižim terenima, a kasnije na lakše dostupnim i višim terenima. Bagremova paša zna biti problematična i nerijetko neuspješna zbog čestih nepovoljnih klimatskih uvjeta koji prevladavaju u to doba godine kao što su kiša, vjetar i vrućine. Najveće se bagremove šume u Hrvatskoj nalaze u Slavoniji i Baranji, Podravini i na Moslavačkoj gori (Vahčić i Matković, 2009). Podaci Udruge proizvođača Slavonskog meda (2017) navode da se bagremov med zbog svojih osobina svrstava u najcjenjenije vrste europskog tržišta, a ubraja se i u najcjenjenije vrste Slavonskog meda. Osim toga, pčele vrlo dobro i uspješno prezimljuju ako im se osigura zimovanje na bagremovu medu. Bagremov med, izrazito je svijetle boje, ugodnog okusa i manje intenzivnog mirisa. Sporo kristalizira zbog većeg udjela fruktoze (Vahčić i Matković, 2009).

2.2.2. Kestenov med, *Castanea sativa* Mill.

Kesten je jednodomna biljka koja raste u šumama u okolici Petrinje, Hrvatske Kostajnice, Dvora na Uni, Zagreba (Medvednica) i u Istri. Kesten se, od svih medonosnih biljaka, smatra najbogatijim izvorom peludi (Vahčić i Matković, 2009). Podaci Udruge proizvođača Slavonskog meda (2017) navode da se pitomi kesten nalazi na neutralnim i blago kiselim tlima. Budući da drvo kestena kasno cvjeta, izvrsna je i gotovo jedina ispaša pčela te jedini izvor peludi i nektara. Kesten cvate na početku ljeta (lipanj) te traje oko 10 dana, no cvatnja može potrajati i duže, oko 20 dana, jer sva stabla ne procvjetaju u isto vrijeme. Samome medenju odgovara vlažno, suho i toplo vrijeme, bez vjetra (Vahčić i Matković, 2009). Kestenov med odlikuje tamna boja, vrlo jak i oštar miris. Ima specifičan trpko-gorki okus i upravo je to jedan od razloga zašto nije omiljen među potrošača (Vahčić i Matković, 2009). Kestenov med sporo kristalizira te tako dugo ostaje u tekućem stanju, zbog visokog udjela fruktoze i niskog udjela glukoze. Karakteristična fizikalno-kemijska svojstva kestenovog meda su niske vrijednosti omjera glukoza/voda i visoke vrijednosti boje (izražene Pfundovom skalom). Prema nacionalnim i međunarodnim propisima (MP, 2015, Vijeće Europske unije, 2002; Codex

Alimentarius Comission, 2001) električna provodnost kestenovog meda mora biti najmanje 0,8 mS/cm. Kestenov med karakterizira velika enzimska aktivnost, visok pH u odnosnu na druge vrste meda te visok fruktoza/glukoza omjer (Persano Oddo i Piro, 2004).

2.2.3. Repičin med, *Brassica napus* L.

Persano Oddo i Piro (2004) navode da se uljana repica koristi isključivo za proizvodnju ulja iz sjemena, no zbog velike količine nektara i peludi koju sadrži i cvatnje u travnju kada gotovo nema drugih pčelinjih paša čini ju vrlo pogodnom za pčele stvarajući velike količine čistog meda. Med uljane repice ima niske vrijednosti električne provodnosti, nizak udio prolina, omjer fruktoze i glukoze blizu 1, a sadrži i visoke vrijednosti glukoze. Neke zemlje zahtjevaju niži omjer fruktoze i glukoze od 1. Za ovaj je med specifična brza kristalizacija zbog visokog udjela glukoze. Zbog tog se svojstva često upotrebljava kao pokretač kristalizacije te se dodaje drugim medovima za dobivanje finije strukture. Repičin med je bijele do svijetlo žute boje, intenzivnog mirisa, umjerene slatkoće i slabe kiselosti.

2.2.4. Cvjetni med

Cvjetni med se dobiva od različitog medonosnog bilja gdje niti jedna biljna vrsta ne prevladava u dovoljnoj mjeri da med posjeduje karkateristična senzorska i fizikalno-kemijska svojstva i peludni spektar tipičan za određeni uniflorni med. U tom se medu može pronaći pelud različitih biljnih vrsta koje cvjetaju u isto vrijeme, ali i elementi medljike. Ravničarska područja Slavonije i Baranje, obronci Krndije i Papuka i područja oko rijeka Drave, Save i Dunava, u proljeće i jesen, daju savršene uvjete za rast i razvoj različitog voća, samoniklog medonosnog bilja i korova od kojih pčele sakupljaju pelud i nektar. Med s ovih područja je izuzetno kvalitetan. O biljnoj vrsti koja dominira u medu ovisit će i boja, okus i sklonost kristalizacije meda. Zbog nektara različitih vrsta biljaka, cvjetni med sadrži sve karakteristike dobrog i kvalitetnog meda (Udruga proizvođača Slavonskog meda, 2017; Vahčić i Matković, 2009).

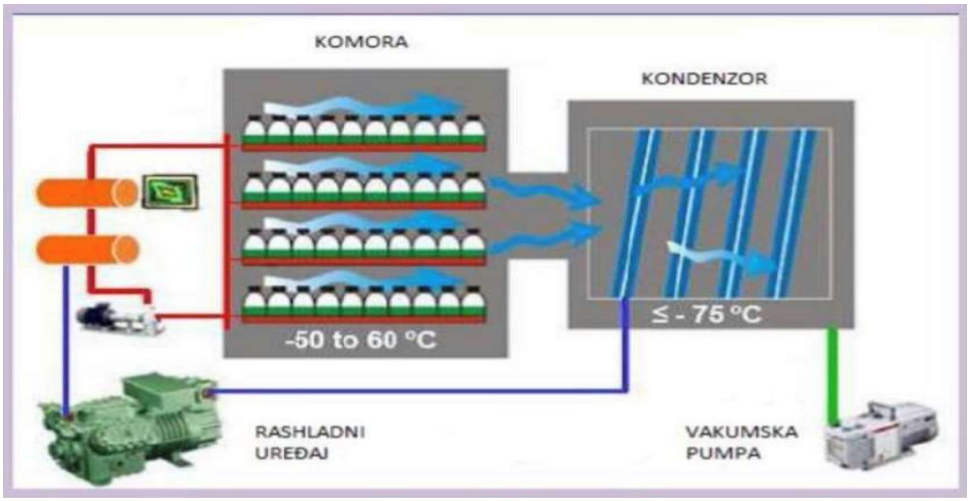
2.1. LIOFILIZACIJA MEDA

Liofilizacija je postupak sušenja namirnice u zamrznutom stanju. Sam proces ima nekoliko koraka, tj. operacije zamrzavanja i dehidratacije (sublimacijom i desorpcijom), te kondicioniranje proizvoda (Lončarić, 2014).

1. stupanj je sublimacija tj. primarna dehidratacija gdje dolazi do uklanjanja vode u obliku leda, tzv. slobodne vode gdje dolazi do stvaranja kristala leda i upravo se zbog toga voda ne pojavljuje u tekućem stanju. Zamrznuti se materijal postupno dehidratira dobivajući finu poroznu strukturu. Budući da namirnica treba ostati u zamrznutom stanju tijekom sublimacije, upotrebljava se niska temperatura (Habuš, 2017). Trajanje sublimacije, odnosno primarne dehidratacije je lako odrediti zato što se slaže s trenutkom nestajanja leda (Lovrić, 2003).

2. stupanj je desorpcija ili sekundarna dehidratacija koja započinje uklanjanjem kapilarne vode koja nije izolirana u obliku kristala leda. Namirnica se zagrijava u temperaturnom rasponu od 30 do 60 °C do pojave proizvoda bez leda. Način na koji se to postiže je tretiranjem proizvoda pod vakuumom u određenom vremenskom periodu kod navedenih temperatura (Habuš, 2017). Proces desorpcije je kontinuiran i nema završne točke s fizikalnog stajališta. U proizvodu će zaostati odgovarajuća količina vode, odnosno zaostala vlaga koja uvelike utječe i na trajnost proizvoda. Svaka molekula vode, iako je ograničena u svom položaju, giba se unutar određenih granica i upravo je s tim određena temperatura nekog materijala (Lovrić, 2003).

Proces liofilizacije se obavlja u uređajima koji se nazivaju liofilizatori. Liofilizatori se sastoje od 3 komponente (**Slika 3**): komore za liofilizaciju, kondenzacijske komore i vakuumske pumpe (Lovrić, 2003).



Slika 3 Liofilizator (Habuš, 2017)

2.1.1. Prednosti liofiliziranog meda

Zbog visoke gustoće i viskoznosti, med je teško koristiti kao dodatak hrani ili lijekovima. Budući da je med prezasićena otopina ugljikohirata, prvenstveno fruktoze i glukoze, dolazi do spontane kristalizacije što neki od potrošača smatraju nepoželjnom pojavom iako pojava kristalizacije ne utječe ni u kojem slučaju na promjenu kvalitete meda. Također, voda kao drugi najvažniji sastojak meda može uzrokovati fermentaciju meda (Bogdanov i sur., 2008) i upravo se zbog toga okrećemo alternativnijim rješenjima kao što je med u prahu. Med u prahu je atraktivna zamjena za tekući med. Odlikuje ga produljeni rok trajanja, može se izravno dodati u začine ili suhe premaze te se lako miješa s drugim suhim sastojcima. Ostale prednosti meda u prahu su praktičnost, lakši transport, manji volumen, lakoća rukovanja i vaganja, smanjen prostor za pohranu i jednostavnije čišćenje (Samborska, 2019).

2.1.2. Nedostaci liofiliziranog meda

Problem liofilizacije se javlja kod sirovina s velikim udjelom šećera kao što je na primjer med, gdje može doći do sljepljivanja sirovine za stijenke komore te do pretvorbe u tekući sirup, što onda istovremeno dovodi do problema kao što je smanjeni prinos proizvoda te poteškoće u radu (Samborska, 2019). Također se pretvorbom tekućeg meda u prah javlja problem visoke higroskopnosti zbog prisutnosti visokog udjela niskomolekularnih ugljikohidrata u medu (Shi i sur., 2013).

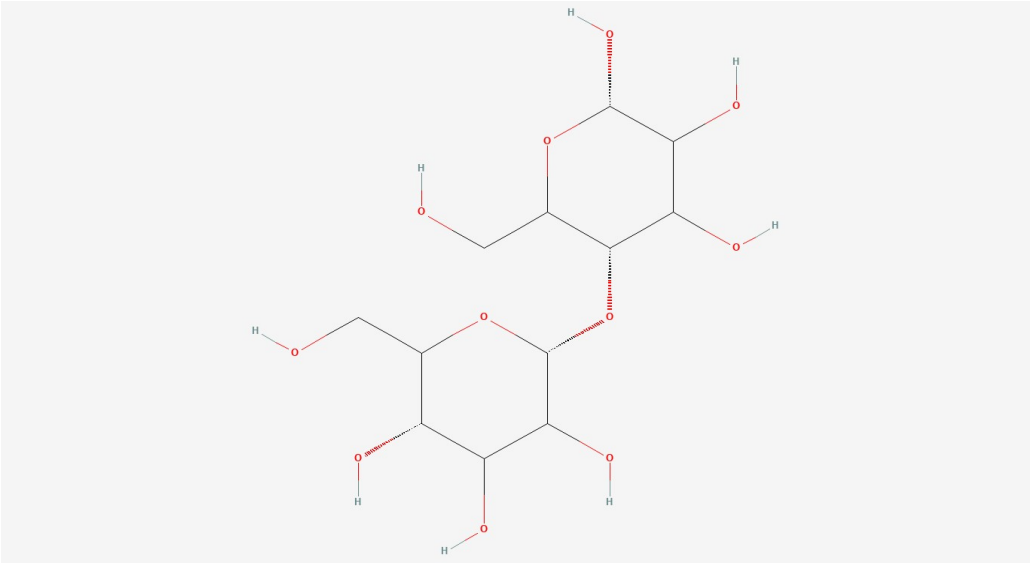
2.2. NOSAČI

Priprema meda u prahu (liofiliziranog meda) uključuje dodatak odgovarajućeg nosača, pomoćnog sredstva za sušenje i/ili komponenti za obogaćivanje metode sušenja. Najčešća metoda za prevladavanje problema s ljepljivošću tijekom sušenja materijala bogatih šećerom je dodatak nosača visoke molekularne težine koji zbog visoke temperature staklastog prijelaza (T_g) mogu promijeniti proces sušenja (Samborska, 2019).

Nosači trebaju imati dobra reološka svojstva, permeabilnost membrane, trebaju moći prolongirati zadržavanje aktivnih sastojaka u određenim dijelovima probavnog trakta. Nosači moraju biti netoksični, nealergeni za ljude, trebaju biti pogodni za sterilizaciju, bez okusa ili jedva osjetnog okusa, što im omogućuje inkapsulaciju sastojaka hrane. Za nosače se upotrebljavaju biopolimeri kao što je škrob, modificirani oblici škroba, bjelančevine ili maltodekstrini (Mikulić, 2021).

2.2.1. Maltodekstrin

Šubarić i sur. (2016) ističu da je maltodekstrin nutritivni saharidni polimer, bez okusa koji se dobiva hidrolizom škroba. Maltodekstrin se upotrebljava kao dodatak za postizanje odgovarajuće teksture prehrambenih proizvoda. Dekstrozni ekvivalent maltodekstrina manji je od 25, a sastoji se od kratkolančanih polimera gdje su D-glukozne jedinice povezane α-1,4 vezom (**Slika 4**).



Slika 4 Struktura maltodekstrina (web izvor 5)

Prednosti maltodekstrina jesu dobra topljivost, niska cijena, neutralan okus i miris u sirovinama, laka probavljivost, niska viskoznost pri visokim koncentracijama krutih tvari te zaštita od oksidacije. Zbog vlaženja koje nastaje zbog prisutnosti hidroksilnih skupina, maltodekstrin ima loša emulgirajuća svojstva koja stvaraju ograničenje u kapsuliranju (Samborska, 2019).

Maltodekstrin se koristi u kombinaciji s drugim matrijalima koji također kapsuliraju kako bi se tijekom sušenja smanjio gubitak hlapljivih spojeva jer stvara zid na površini te upravo na taj način poboljšava prinos praha i snižava udio vlage u gotovom proizvodu. Također, maltodekstrin zbog svoje sposobnosti smanjenja bioaktivne pokretljivosti može potaknuti dodatni stabilizacijski učinak, prilikom čega dolazi do smanjenja propusnosti kisika koje je obrnuto proporcionalno njegovom dekstroznom ekvivalentu (Mikulić, 2021).

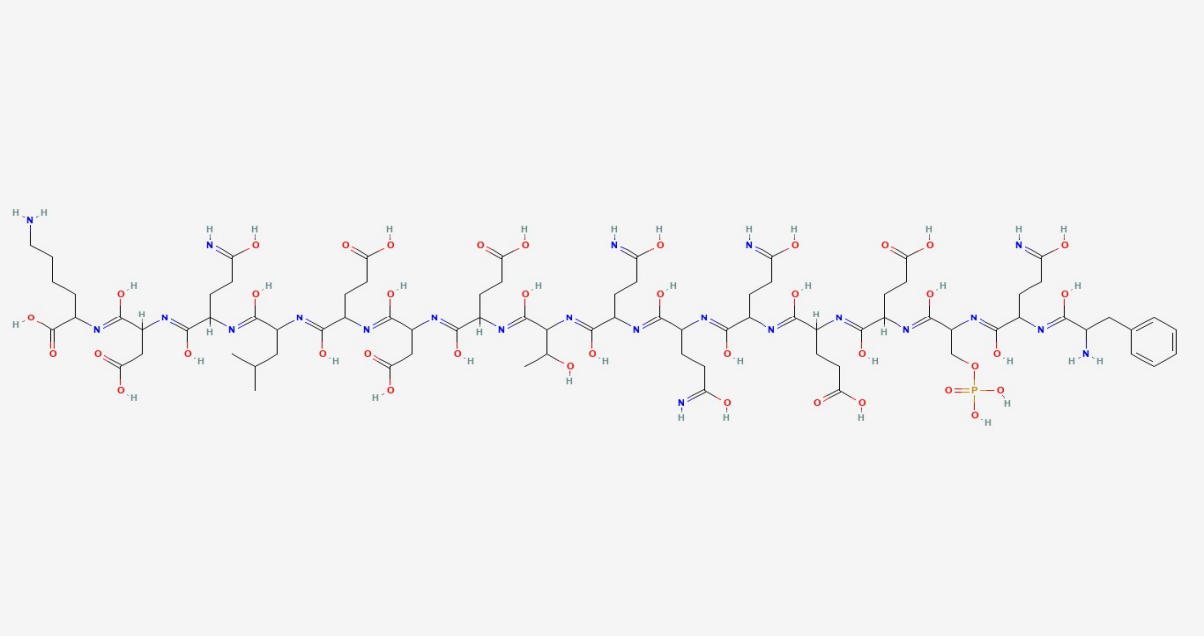
2.2.2. Kazein

Kazein je najvažniji protein mlijeka. Izdvojen iz mlijeka predstavlja bijelu amorfnu tvar. Kazein ima koagulirajuća svojstva i proizvodnja većine sireva je bazirana na destabilizaciji i agreagaciji kazeina. Proizvodnja sira je glavna uloga kazeina u prehrambenoj industriji jer iz mlijeka u sir uglavnom prelaze proteini i masti (Zlatar, 2018).

Kazein se sastoji od više frakcija, αs1, αs2, β i κ kazein koji su produkti specifičnih gena sintetiziranih u mliječnoj žlijezdi (**Slika 5**):

1. αS-frakcije kazeina imaju najviše fosfoserina, a predstavljaju hidrofilno područje proteinske molekule jako negativnog naboja;
2. β-kazein predstavlja najhidrofobniji dio s jednim vrlo uskim, ali izrazito naelektriziranim dijelom molekule;
3. κ-kazein je potpuno različit od α- i β-kazeina jer sadrži samo 1 mol fosfoserina/mol, njegov C-terminalni dio je hidrofilan i sadrži ugljikohidrate, dok mu je N-terminalni dio izrazito hidrofoban i sadrži relativno stabilnu S-S vezu (Lučan Čolić, 2022).

Kazeinska molekula ima nešto više -COOH skupina pa kazein ima slabo kisela svojstva i zbog toga je cijela micela negativno nabijena. Zbog neto-negativnog naboja i obavijenosti hidratnim slojem, micele kazeina su vrlo stabilne jer su koloidno dispergirane (Lučan Čolić, 2022).



Slika 5 Struktura kazeina (web izvor 6)

Upravo zbog slabo kiselih svojstava i negativnog naboja, pH izoelektrična točka kazeina je oko 4,6 što predstavlja važan korak u proizvodnji fermentiranih proizvoda, svježih sireva, pri izolaciji kazeina, ali i kod drugih proizvodnih procesa. Kod te kiselosti dolazi do narušavanja stabilnosti kazeina, precipitacije i agregacije i upravo je zbog toga pH toliko važan (Zlatar, 2018).

Kazein ima mnoge prednosti uključujući nisku cijenu i jednostavnu proizvodnju. Industrijska proizvodnja kazeina uključuje proces koagulacije koji se može prenositi na dva načina: enzimskim ili kiselim taloženjem gdje pri odgovarajućim uvjetima mogu stvarati gelove. Razmotana struktura kazein čini lako dostupnim za proteolizu, osiguravajući dobro oslobađanje proteolitičkih enzima u gastrointestinalnom traktu. Priroda kazeina omogućuje micelama afinitet za hidrofobne tvari, također i za hidrofilne makromolekule kao što su proteini sirutke i polisaharidi. U mlijeku se kazein nalazi u obliku micele (Glab i Boratynski, 2017).

2.3. HIGROSKOPNOST MEDA

Higroskopnost meda predstavlja njegovo svojstvo da upija i zadržava vodu iz okoline. Med higroskopnim čini visoki udio fruktoze. Zbog velike viskoznosti meda, gibanje apsorbirane vode s površine u unutrašnjost meda je sporo i promjene koje nastaju zbog higroskopnosti se najviše vide na površini (Petričko, 2015). Higroskopnost je vrlo važna kod pakiranja, skladištenja i u industrijskoj upotrebi. Ako med upija vlagu, udio vode se povećava i skloniji je fermentaciji (Machado De-Melo i sur., 2018).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog rada bio je odrediti utjecaj vrste nosača (maltodekstrin i kazein) na odabrana svojstva liofiliziranog meda. U tu svrhu određen je udio ukupnih polifenola, ukupna antioksidativna aktivnost i higroskopnost prahova.

3.2. UZORCI MEDA

3.2.1. Određivanje botaničkog podrijetla

Za analizu korištene su četiri vrste meda, tri uniflorne vrste (repičin, kestenov i bagremov med) i cvjetni (multiflorni) med. Uzorci su prikupljeni tijekom 2021. godine, a potvrda botaničkog podrijetla provedena je na osnovi melisopalinološke (peludne) analize, odabranih fizikalno-kemijskih parametara i senzorske analize. Kvalitativna melisopalinološka analiza odnosno metoda brojanja i identifikacije peludi u netopljivom sedimentu meda, provedena je prema metodi von der Ohe i sur. (2004), a priprema preparata za mikroskopiranje prema DIN metodi 10760 (DIN, 2002). Identifikacija peludnih zrnaca provedena je usporedbom morfoloških karakteristika (veličina, oblik, boja i građa vanjske stijenke) s literaturnim podacima (von der Ohe i sur., 2004). Od fizikalno-kemijskih parametara određeni su: udio vode, električna provodnost, udio hidroksimetilfurfurala (HMF), aktivnost dijastaze te sastav i udio ugljikohidrata (HPLC-RI metoda) prema metodama koje je objavila međunarodna komisija za med (International Honey Commission, IHC) (Bogdanov, 2009). Sastav i udio ugljikohidrata može se koristiti kao jedan od parametara određivanja botaničkog podrijetla, ali je bitan i za stabilnost odnosno higroskopnost liofiliziranih uzoraka meda. Senzorsku analizu proveo je panel od pet senzorskih analitičara, a ocjenjivali su se miris, okus, boja, bistrina/kristalizacija i čistoća uzoraka metodom bodovanja (HPS, 2010). Na osnovi dobivenih rezultata provedena je ocjena sukadnosti sa zahtjevima propisa o medu (MPRRR, 2009; MP, 2015) te je potvrđeno botaničko podrijetlo ispitivanih uzoraka.

3.2.2. Priprema otopina za liofilizaciju

Pripremljena je otopina meda za liofilizaciju s maltodekstrinom i kazeinom kao nosačem. Omjer nosača i meda iznosio je 27:73 u vodenoj otopini konačne koncentracije 43 % suhe tvari meda. Otopina je homogenizirana pomoću magnetske miješalice, nakon čega su stavljene u

posude za liofilizaciju u kojima su bile zamrznute na -80°C, zatim u liofilizator (Martin Christ, Alpha 2–4 LSCplus, Osterode am Harz, Njemačka) gdje su bile podvrgnute procesu liofilizacije. Liofilizacija je provedena pri tlaku od 0,250 mbara tijekom 48 sati. Liofilizirani uzorci meda pohranjeni su u plastične vrećice, zatvoreni i čuvani u eksikatoru do analiza.

3.3. METODE

3.3.1. Folin-Ciocalteu metoda

Spektofotometrijska metoda, bazira se na reakciji fenolnih spojeva s Folin-Ciocalteu reagensom u kiselom mediju pri čemu nastaje obojeni produkt. Intenzitet obojenja je proporcionalan koncentraciji ukupnih fenola u otopini i mjeri se na valnoj duljini λ = 750 nm. Za određivanje udjela polifenola u medu, odvaže se 15 g uzorka meda i otopi u 50 mL destilirane vode (Beretta i sur., 2005). U liofiliziranom medu potrebno je prethodno ukloniti komponente koje reagiraju sa Folin-Ciocalteu reagensom, prvenstveno se to odnosi na proteine (kazein). Liofilizirani prah meda (2 g) odvaže se u odmjernu tikvicu od 10 mL, otopi se u oko 5 mL destilirane vode. Zatim se doda 0,1 mL Carrez I otopine, promiješa te se doda 0,1 mL Carezz II otopine, nadopuni se do oznake destiliranom vodom i sve promiješa na vortex miješalici (prilagođeno iz Velázquez-Vázquez i sur., 2015). Otopina se profiltrira kroz filter papir prije analize. Alikvot od 0,1 mL otopine meda ili liofiliziranog meda pomiješa se sa 1,0 mL Folin-Ciocalteu reagensa (Reagecon, Shannon, Irska), te miješa na vortex miješalici 2 minute. Nakon 20 minuta stajanja na sobnoj temperaturi u mraku, očita se apsorbancija na 750 nm u odnosu na slijepu probu. Slijepa proba za određivanje ukupnih polifenola u medu je šećerni analog (vodena otopina smjese ugljikohidrata: 40 % fruktoze, 30 % glukoze, 8 % maltoze, 2 % saharoze), a za liofilizirane uzorke je ili otopina maltodekstrina ili otopina kazeina ovisno o vrsti nosača koji se upotrebljen. Udio ukupnih polifenola izračuna se iz kalibracijske krivulje, a rezultati su izraženi kao mg galne kiseline po kg meda odnosno kg liofiliziranog meda. Za izradu kalibracijske krivulje korišten je standard galne kiseline u koncentracijskom rasponu od 0,01 do 0,2 mg/mL galne kiseline.

3.3.2. FRAP metoda

Mjerenje ukupnog antioksidativnog kapaciteta koje se temelji na redukciji željeza iz feri (Fe^{3+}) u fero (Fe^{2+}) oblik u prisutnosti antioksidanasa pri pH 3,6. Nastali Fe^{2+} ioni i TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil-s-triazin)) stvaraju obojeni kompleks, s maksimumom apsorpcije na 593 nm (Beretta i sur., 2005). Za pripremu FRAP reagensa uzme se TPTZ reagens, $FeCl_3$ i acetatni pufer (pH 3,6) u omjeru 1:1:10. FRAP reagens se napravi svjež i termostatira na 37 °C u vodenoj kupelji. Prvo se izvaže 0,031 g TPTZ reagensa u odmjernu tikvicu od 10 mL i otopi u 40 mM HCl te termostatira na 50 °C u vodenoj kupelji, zatim se izvaže 0,054 g $FeCl_3$ x 6 H_2O te se otopi u 10 mL destilirane vode. Za med se odvaže 5 g uzorka i otopi u 50 mL destilirane vode. Odpipetira se 0,2 mL uzorka, doda 1,8 mL FRAP reagensa, te inkubira 10 minuta na 37 °C. Slijepa proba je šećerni analog. Na kraju se na spektrofotometru apsorbancija mjeri na valnoj duljini od 593 nm. Rezultati su izraženi kao µM Fe(ll), a izračunavaju se iz kalibracijskog raspona od 50 do 1000 µM Fe(ll) $FeSO_4$ x 7 H_20. Za liofilizirani med je bilo potrebno pripremiti uzorke s Carrez I i II otopinom, gdje se odvaže 2 g uzorka u odmjernu tikvicu od 10 mL, otopi se u oko 5 mL destilirane vode. Zatim se doda 0,1 mL Carrez I otopine, promiješa i onda se doda 0,1 mL Carezz II otopine, nadopuni se do oznake destiliranom vodom i sve promiješa na vortex miješalici. Na kraju se otopina filtrira kroz filter papir i od filtrata se uzima 0,2 mL uzorka, doda 1,8 mL FRAP reagensa, te inkubira 10 minuta na 37 °C, te se izmjeri apsorbancija na 593 nm.

3.3.3. Određivanje udjela vode nakon liofilizacije meda

U prethodno osušenu, u eksikatoru ohlađenu i odvaganu aluminijsku posudicu s poklopcem, izvagano je 1 g (± 1 mg) uzorka. Uzorci su nakon toga osušeni do konstantne mase u vakuum sušioniku pri tlaku 40 mbar i temperaturi od 60 °C. Udio vode (%) u liofiliziranim uzorcima meda određen je kao omjer isparene vode i mase uzorka.

3.3.4. Higroskopnost liofiliziranog meda

Higroskopnost liofiliziranih medova je određena prema metodi Ganaie i sur. (2021). Uzorci su izvagani i stavljeni u eksikator u kojem je na dnu bila otopina NaCl-a (zasićena) kako bi se osigurala relativna vlažnost od 75 %. Uzorci su tako ostavljeni tijekom 7 dana nakon čega su izvagani i izračunata je količina adsorbirane vode.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI MJERENJA UKUPNIH POLIFENOLA I UKUPNE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI U MEDU I LIOFILIZIRANIM UZORCIMA MEDA

Tablica 1 Udio ukupnih polifenola i ukupne antioksidativne aktivnosti meda (FRAP metoda)

UZORCI	UDIO UKUPNIH POLIFENOLA [mg galne kiseline/kg meda]	FRAP [µM Fe(II)]
M-46	180,56 ± 1,82	184,45 ± 2,00
M-RS-02	70,44 ± 3,01	75,70 ± 1,75
M-30	74,99 ± 1,82	82,20 ± 0,75
M-93	54,97 ± 0,00	56,20 ± 1,25

*M-46-uzorak kestenovog meda, M-RS-02-uzorak repičinog meda, M-30-uzorak cvjetnog meda, M-93-uzorak bagremovog meda

Tablica 2 Udio ukupnih polifenola i ukupne antioksidativne aktivnosti (FRAP metoda) liofiliziranih uzoraka meda s dodatkom nosača

UZORCI	UDIO UKUPNIH POLIFENOLA [mg galne kiseline/kg liofiliziranog meda]	FRAP [µM Fe(II)]
MD-M-46	144,16 ± 1,82	160,95 ± 0,50
K-M-46	140,52 ± 1,82	220,20 ± 1,25
MD-M-RS-02	60,43 ± 1,82	70,20 ± 0,25
K-M-RS-02	40,41 ± 0,00	78,20 ± 1,25
MD-M-30	67,71 ± 1,82	76,20 ± 1,75
K-M-30	64,07 ± 1,82	88,28 ± 1,31
MD-M-93	49,51 ± 1,82	50,70 ± 0,25
K-M-93	40,41 ± 0,00	59,20 ± 1,25

*M-46-uzorak kestenovog meda, M-RS-02-uzorak repičinog meda, M-30-uzorak cvjetnog meda, M-93-uzorak bagremovog meda, MD-dodatak maltodekstrina, K-dodatak kazeina

Prema rezultatima prikazanim u **Tablici 1** vidljivo je da je ukupna antioksidativna aktivnost određena FRAP metodom najveća u kestenovom medu (184,45 µM Fe(II)), zatim u cvjetnom medu (82,2 µM Fe(II)), potom u repičinom medu (75,7 µM Fe(II)), a najmanja antioksidativna

aktivnost je izmjerena kod bagremovog meda (56,2 µM Fe(II)). U istraživanju koje su proveli Flanjak i sur. (2016) prosječna antioksidativna aktivnost kestenovog meda iznosila je 282,8 ± 41,1 µM Fe(II), što je veće od vrijednosti rezultata dobivenih u ovome radu, dok je antioksidativna aktivnost zabilježena kod bagremovog meda iznosila 36,1 ± 18,8 µM Fe(II) što je nešto manje od vrijednosti rezultata dobivenih u ovome radu. Treba napomenuti da je u ovom istraživanju određena ukupna antioksidativna aktivnost samo jednog uzorka svake ispitivane vrste meda dok je u navedenom radu ispitivano 10 uzoraka svake vrste.

Najviši udio ukupnih polifenola imao je kestenov med (180,56 mg galne kiseline/kg meda), zatim cvjetni med (74,99 mg galne kiseline/kg meda), potom repičin med (70,44 mg galne kiseline/kg meda), a najmanji udio ukupnih polifenola je izmjeren u bagremovom medu (54,97 mg galne kiseline/kg meda) kako je navedeno u **Tablici 1.** Udio ukupnih polifenola u uzorcima kestenovog meda koje su objavili Flanjak i sur. (2016) kretao se od 129,2 do 212,7 galne kiseline/kg meda dok su vrijednosti za bagremov med bile između 28,2 i 52,0 galne kiseline/kg meda što je usporedivo sa vrijednostima dobivenim u ovom istraživanju.

Iz rezultata mjerenja (**Tablica 2**) vidljivo je da je udio ukupnih polifenola uz dodatak maltodekstrina kao nosača najviši u liofiliziranom kestenovom medu (144,16 mg galne kiseline/kg meda), zatim u liofiliziranom cvjetnom medu (67,71 mg galne kiseline/kg meda), potom u liofiliziranom repičinom medu (60,43 mg galne kiseline/kg meda), a najmanji udio ukupnih polifenola uz dodatak maltodekstrina je bio u liofiliziranom bagremovom medu (49,51 mg galne kiseline/kg meda).

Najviši udio ukupnih polifenola uz dodatak kazeina kao nosača bio je u liofiliziranom kestenovom medu (140,52 mg galne kiseline/kg liofiliziranog meda), zatim u liofiliziranom cvjetnom medu (64,07 mg galne kiseline/kg liofiliziranog meda), a najmanji udio ukupnih polifenola uz dodatak kazeina kao nosača bio je u liofiliziranom repičinom medu (40,41 mg galne kiseline/kg liofiliziranog meda) i u liofiliziranom bagremovom medu (40,41 mg galne kiseline/kg liofiliziranog meda). Ukupna antioksidativna aktivnost liofiliziranog meda uz dodatak maltodekstrina kao nosača najveća u liofiliziranom kestenovom medu (160,95 µM Fe(II)), zatim u liofiliziranom cvjetnom medu (76,2 µM Fe(II)), potom u liofiliziranom repičinom medu (70,2 µM Fe(II)), a najmanja antioksidativna aktivnost uz dodatak maltodekstrina izmjerena je u liofiliziranom bagremovom medu (50,7 µM Fe(II)). Poredak prema vrstama meda u uzorcima liofiliziranog meda uz dodatak kazeina kao nosača isti je kao uz dodatak

maltodekstrina. Najveća ukupna antioksidativna aktivnost određena je u liofiliziranom kestenovom medu (220,2 µM Fe(II)), zatim u liofiliziranom cvjetnom medu (88,28 µM Fe(II)), nadalje u liofiliziranom repičinom medu (78,2 µM Fe(II)), a najmanja je antioksidativna aktivnost uz dodatak kazeina izmjerena u liofiliziranom bagremovom medu (59,2 µM Fe(II)).

U istraživanju koje su proveli Lončarić i Piližota (2012) rezultati su pokazali da šećeri imaju utjecaj na ukupne polifenole. Reakcijom šećera i polifenola dolazi do zadržavanja polifenola. Povećanjem udjela šećera, povećava se i udio ukupnih polifenola što bi mogao biti razlog povećanja vrijednosti rezultata ovog rada kod liofiliziranog meda s dodatkom maltodekstrina.

Everette i sur. (2010) ističu da se korištenjem Folin-Ciocalteu metode kod određivanja ukupnih polifenola mogu očekivati povećani udjeli ukupnih polifenola zbog reakcije Folin-Ciocalteu reagensa s drugim reducirajućim spojevima. Jedna od mogućnosti zašto je liofilizacijom meda došlo do smanjenja vrijednosti rezultata za ukupne polifenole i antioksidativnu aktivnost je ta što se za liofilizaciju nije koristio čisti med, već smjesa meda i nosača. Iz dobivenih rezultata se uočava kako su ukupna antioksidativna aktivnost određena FRAP metodom i udio ukupnih polifenola u korelaciji. Što je med tamniji, to je imao veći udio ukupnih polifenola i antioksidativnu aktivnost neovisno o upotrebljenom nosaču.

4.2. REZULTATI MJERENJA SASTAVA I UDJELA UGLJIKOHIDRATA U MEDU ODREĐEN HPLC-RI METODOM

Tablica 3 Udio ugljikohidrata u ispitivanim vrstama medova određen HPLC-RI metodom

Uzorak	Fruktoza (%)	Glukoza (%)	Ksiloza (%)	Saharoza (%)	Maltoza (%)	Melecitoza (%)	Rafinoza (%)
M-46	43,00 ± 0,13	25,46 ± 0,16	0,23 ± 0,03	0,00 ± 0,00	5,99 ± 0,19	0,08 ± 0,01	0,03 ± 0,01
M-RS-02	35,64 ± 0,32	38,21 ± 0,39	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,38 ± 0,02	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
M-30	37,72 ± 0,28	33,12 ± 0,14	0,12 ± 0,03	0,04 ± 0,00	1,59 ± 0,02	0,20 ± 0,00	0,13 ± 0,00
M-93	43,16 ± 0,02	28,97 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,00	2,48 ± 0,00	0,88 ± 0,00	0,09 ± 0,00

*M-46-uzorak kestenovog meda, M-RS-02-uzorak repičinog meda, M-30-uzorak cvjetnog meda, M-93-uzorak bagremovog meda

Rezultati sastava i udjela ugljikohidrata u ispitivanim uzorcima meda prikazani su u **Tablici 3** iz koje je vidljivo da je najveći udio fruktoze izmjeren u bagremovom medu (43,16 %), a najmanji u repičinom medu (35,64 %). U repičinom medu određen je najveći udio glukoze, a najmanji u bagremovom medu (28,97 %), ksiloze najviše ima u kestenovom medu (0,23 %), dok je u ostalim vrstama meda gotovo i nema. Maltoze najviše sadrži kestenov med (5,99 %), a najmanje maltoze ima u repičinom medu (1,38 %). Udio melecitoze u svim uzorcima iznosio je ispod 1 % pri čemu je najviše izmjereno u bagremovom medu (0,88). Rafinoze ima vrlo malo u cvjetnom medu (0,13 %), a u ostalim vrstama je gotovo nema. Vrijednost fruktoze u kestenovom medu je iznosila 43 % i približno je jednaka rezultatu koji su dobili Persano Oddo i Piro (2004), a iznosio je 40,8 %. Primorac i sur. (2011) naveli su kako je udio fruktoze u uzorcima bagremovog meda bila 43 %, glukoze 27,6 %, saharoze 2,8 %, maltoze 3,0 %, malecitoze 1,7 % te rafinoze 0,2 %. Udio fruktoze u uzorcima kestenovog meda bila je 42 %, glukoze 27,4 %, saharoze 2,2 %, maltoze 2,4 %, malecitoze 0,2 % te rafinoze 0 %. Navedeni rezultati su vrlo slični vrijednostima dobivenim o ovom istraživanju.

4.3. REZULTATI UDJELA VODE U UZORCIMA NAKON LIOFILIZACIJE

Tablica 4 Udio vode u liofiliziranim uzorcima meda

UZORCI	UDIO VODE (%)
MD-M-46	0,80 ± 0,03
K-M-46	1,50 ± 0,06
MD-M-RS-02	0,78 ± 0,01
K-M-RS-02	1,36 ± 0,05
MD-M-30	2,08 ± 0,02
K-M-30	1,40 ± 0,12
MD-M-93	0,56 ± 0,01
K-M-93	1,52 ± 0,11

*M-46-uzorak kestenovog meda, M-RS-02-uzorak repičinog meda, M-30-uzorak cvjetnog meda, M-93-uzorak bagremovog meda, MD-dodatak maltodekstrina, K-dodatak kazeina

Udio vode u liofiliziranim uzorcima meda uz dodatak maltodekstrina prikazan je u **Tablici 4.** Iz rezultata je vidljivo da je najviši udio vlage imao liofilizirani cvjetni med (2,08 %), zatim kestenov med (0,80 %), potom liofilizirani repičin med (0,78 %), a najmanji udio vlage uz dodatak maltodekstrina imao je liofilizirani bagremov med (0,56 %). Mjerenjem udjela vode u liofiliziranim uzorcima sa nosačem kazeinom poredak je bio sljedeći: liofilizirani bagremov med (1,52 %), kestenov med (1,50 %), cvjetni med (1,40 %), te liofilizirani repičin med (1,36 %). Uzorci s maltodekstrinom kao nosačem sadržavali su manji udio vlage od uzoraka s kazeinom kao nosačem. Shi i sur. (2013) navode da što je niži udio vode, to je veća higroskopnost, tj. veća je sposobnost adsorpcije vode iz okoline, što je povezano s većom koncentracijom gradijenta vode između proizvoda i okoline. Shi i sur. (2013) također navode da proteini imaju veliku sposobnost vezanja vode te su zato mogući veći dobiveni rezultati kod određivanja higroskopnosti za liofilizirane medove s dodatkom kazeina kao nosača. Maltodekstrin je zbog svoje velike molekularne mase manje higroskopan te je posljedično tome, higroskopnost liofiliziranog meda smanjena, što je rezultiralo nižim udjelom vode u liofiliziranom medu.

4.4. REZULTATI MJERENJA HIGROSKOPNOSTI LIOFILIZIRANOG MEDA

Tablica 5 Higroskopnost različitih vrsta liofiliziranih medova

UZORAK	HIGROSKOPNOST (g vode/g uzorka)
MD-M-46	0,48 ± 0,00
K-M-46	0,41 ± 0,00
MD-RS-02	0,42 ± 0,00
K-RS-02	0,42 ± 0,00
MD-M-30	0,40 ± 0,00
K-M-30	0,36 ± 0,00
MD-M-93	0,45 ± 0,00
K-M-93	0,44 ± 0,00

*M-46-uzorak kestenovog meda, M-RS-02-uzorak repičinog meda, M-30-uzorak cvjetnog meda, M-93-uzorak bagremovog meda, MD-dodatak maltodekstrina, K-dodatak kazeina

Iz rezultata prikazanih u **Tablici 5** vidljivo je da je od liofiliziranih uzoraka meda uz dodatak maltodekstrina kao nosača najviše higroskopan bio liofilizirani kestenov med (0,48 g vode/g uzorka), zatim liofilizirani bagremov med i liofilizirani repičin med (0,42 g vode/g uzorka), dok je najmanje higroskopan bio cvjetni liofilizirani med (0,4 g vode/g uzorka). Rezultati su pokazali da je uz dodatak kazeina kao nosača najviše higroskopan liofilizirani bagremov med (0,44 g vode/g uzorka), zatim liofilizirani repičin med (0,42 g vode/g uzorka), potom liofilizirani kestenov med (0,41 g vode/g uzorka), dok je uz dodatak kazeina kao nosača najmanje higroskopan bio liofilizirani cvjetni med (0,36 g vode/g uzorka). Razlike u nosačima gotovo da i nema, sva su mjerenja bila vrlo slična s oba nosača. Na higroskopnost liofiliziranih medova utječe i drugačiji sastav šećera pojedinih vrsta meda. U istraživanju koje su proveli Ganaie i sur. (2021) navedeno je da su različite liofilizirane vrste meda uz dodatak maltodekstrina kao nosača imale značajno veću higroskopnost od liofiliziranog meda s dodatkom proteina sirutke kao nosačem. Protein sirutke je mogao promijeniti ravnotežu hidrofilno-hidrofobnih mjesta čestica praha i na taj način povećati količinu apsorbirane vode. Slični rezultati su dobiveni i u ovome radu gdje je kazein kao nosač mogao povećati količinu apsorbirane vode i na taj način dobiti vrlo slične vrijednosti kao i maltodekstrin kao nosač. Shu Khang i sur. (2019) navode

kako je higroskopnost mjera sposobnosti upijanja vlage meda i da uvelike ovisi o udjelu vode u medu jer gubitkom vode dolazi do povećanja higroskopnosti. Iz vrijednosti rezultata dobivenih u ovome radu vidi se da su uzorci koji su imali veći udio vode, imali manju higroskopnost.

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Najveću izmjerenu ukupnu antioksidativnu aktivnost određenu FRAP metodom i najveći udio ukupnih polifenola imao je kestenov med, dok je najmanja antioksidativna aktivnost i najmanji udio ukupnih polifenola izmjeren u bagremovom medu.
- Nakon liofilizacije uzoraka meda, došlo je do smanjenja vrijednosti antioksidativne aktivnosti i udjela ukupnih polifenola.
- Dodatak maltodekstrina kao nosača nakon liofilizacije rezultirao je nešto većim vrijednostima kod određivanja udjela ukupnih polifenola, dok je kazein kao nosač dao veće vrijednosti rezultata prilikom određivanja antioksidativne aktivnosti liofiliziranih uzoraka.
- Antioksidativna aktivnost i ukupni polifenoli u medu su u korelaciji sa bojom ispitivanih vrsta meda. Što je med tamniji, to je imao veći udio ukupnih polifenola i antioksidativnu aktivnost u slučaju dodatka oba nosača.
- Liofilizirani uzorci s kazeinom kao nosačem imali su veći udio vode nakon liofilizacije u odnosu na liofilizirane uzorake istih uzoraka meda s dodatkom maltodekstrina kao nosača, osim kod liofiliziranog cvjetnog meda gdje je bilo obrnuto.
- Higroskopnost liofiliziranih uzoraka s kazeinom i maltodekstrinom kao nosačima rezultirala je gotovo jednakim vrijednostima odnosno nije bilo značajne razlike u higroskopnosti ispitivanih liofiliziranih uzoraka meda.

6. LITERATURA

Alvarez-Suarez JM: *Bee Products - Chemical and Biological Properties.* Springer International Publishing, Ecuador, 2017.

Beretta G, Granata P, Ferrero M, Orioli M, Maffei Facino R: Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* 533(2):185-191, 2005.

Bogdanov S: Harmonised methods of the international honey commission. International honey commission (IHC), 1-63, 2009.

Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P: Honey for nutrition and health: A review.American Journal of the College of Nutrition 27:677-689, 2008.DIN, Deutsches Institut für Normung: Analysis of honey - Determination of the relative frequency of pollen, DIN 10760:2002-05, 2002.

Crane E, Mizrahi A, Lensky Y: *Bee Products Properties, Applications, and Apitherapy*. Plenum Press, New York, 1997.

Everette JD, Bryant QM, Green AM, Abbey YA, Wangila GW, Walker RB: Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin-Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58:8139-8144, 2010.

Flanjak I, Kenjerić D, Bubalo D, Primorac Lj: Characterisation of selected Croatian honey types based on the combination of antioxidant capacity, quality parameters, and chemometrics. *European Food Research and Technology*, 242:467–475, 2016.

Ganaie TA, Masoodi F A, Rather S A, Gani A: Exploiting maltodextrin and whey protein isolate macromolecules as carriers for the development of freeze dried honey powder. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications* 2:100040, 2021.

Glab TK, Boratynski J: Potential of Casein as a Carrier for Biologically Active Agents. *Topics in Current Chemistry* 375:71, 2017.

Habuš V: Liofilizacija lipidno-alginatnih nanočestica s deksametazonom. *Diplomski rad.* Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb, 2017.

HPS, Hrvatski pčelarski savez: Pravilnik ocjenjivanja kvalitete meda na natjecanjima u Republici Hrvatskoj, 2010.

Lončarić A: Utjecaj dodatka šećera i praha kore jabuka na udio polifenola i antioksidacijsku aktivnost kaša od jabuka. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2014.

Lončarić A, Piližota V: Utjecaj dodatka šećera na sadržaj polifenola i antioksidacijsku aktivnost jabuka. *UIX Susret mladih kemijskih inženjera Nove tehnologije i trasfer znanja,* 195-195. Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa, Zagreb, 2012.

Lovrić T: *Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva*. Hinus, Zagreb, 2003.

Lučan Čolić M: Matrijali s predavanja „*Tehnologija mlijeka i mliječnih proizvoda*". Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2022.

Machado De-Melo AA, Bicudo de Almeida-Muradian L, Sancho MT, Pascual-Maté A: Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, 57(1): 5-37, 2018.

Mikulić A: Inkapsulacija fenolnih spojeva koprive primjenom sušenja raspršivanjem. *Diplomski rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, Zagreb, 2021.

MP, Ministarstvo poljoprivrede: *Pravilnik o medu*. Narodne novine 30/15, 2015

MPRRR, Ministarstvo poljoprivrede, ribarstva i ruralnog razvoja: *Pravilnik o kakvoći uniflornog meda.* Narodne novine 122/2009, 2009.

Ocampo Rosales GR: Medicinal Uses of Melipona beecheii Honey, by the Ancient Maya. U *Pot-Honey,* 229-240, Springer 2013.

Persano Oddo, L, Piro R: Main European unifloral honeys:descriptive sheets. *Apidologie* 35:S38-S81, 2004.

Petričko P: Fizikalno-kemijski parametri cvjetnog meda kontinentalne Hrvatske. *Završni rad*. Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2015.

Primorac Lj, Flanjak I, Kenjerić D, Bubalo D, Topolnjak Z: Specific rotation and carbohydrate profile of Croatian unifloral honeys. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(5):515-519, 2011.

Samborska K: Powdered honey – drying methods and parameters, types of carriers and drying aids, physicochemical properties and storage stability. *Trends in Food Science & Technology* 88:133-142, 2019.

Shi Q, Fang Z, Bhandari B: Effect of Addition of Whey Protein Isolate on Spray-Drying Behavior of Honey with Maltodextrin as a Carrier Material. *Drying Technology: An International Journal* 31(13-14): 1681-1692, 2013.

Shu Khang Y, Nyuk Ling C, Yus Aniza Y, Kar Yeen C: Quality characteristics of dehydrated raw Kelulut honey. *International Journal of Food Properties* 22:556–571, 2019.

Siddiqui AJ, Musharraf SG, Iqbal Choudhary M, Rahman A: Application of Analytical Methods in Authentication and Adulteration of Honey. *Food Chemistry* 217:687-698, 2017.

Šubarić D, Babić J, Ačkar Đ: Materijali s predavanja „*Tehologija škroba*“. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2016.

Udruga proizvođača Slavonskog meda: Slavonski med oznaka izvornosti Specifikacija proizvoda, 2017. https://poljoprivreda.gov.hr/UserDocsImages/arhiva/datastore/filestore/86/Izmijenjena_Specifikacija_proizvoda-Slavonski_med_.pdf [27.09.2022]

Vahčić N, Matković D: Kemijske, fizikalne i senzorske značajke meda, 2009. https://pdfcoffee.com/kemijske-fizikalne-i-senzorske-karakteristike-meda-pdf-free.html [05.09.2022]

Velázquez Vázquez C, Villa Rojas MG, Alvarez Ramírez C, Chávez-Servín JL, García-Gasca T, Ferriz Martínez RA, García OP, Rosado JL, López-Sabater CM, Castellote AI, Andrade Montemayor HM, de la Torre Carbot K: Total phenolic compounds in milk from different species. Design of an extraction technique for quantification using the Folin-Ciocalteu method. *Food Chemistry* 176:480-486, 2015.

Von der Ohe W, Persano Oddo L, Piana ML, Morlot M, Martin P: Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie* 35:18-25, 2004.

Web izvor 1: https://seljak.me/savjetuje/razlika-izmedu-tamnog-i-svijetlog-meda [07.09.2022]

Web izvor 2:https://www.paldat.org/search/genus/Robinia [09.09.2022]

Web izvor 3:https://www.paldat.org/search/genus/Castanea [09.09.2022]

Web izvor 4: https://www.paldat.org/search/genus/Brassica [09.09.2022]

Web izvor 5: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Maltodextrin-dextrose-equivalent-10-15#section=Structures [08.09.2022]

Web izvor 6: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/73995022 [08.09.2022]

Zlatar, F: Fizikalno kemijska usporedba sastava kravljeg, kozjeg i ovčjeg mlijeka. *Završni rad*. Prehrambeno-biotehnološki fakultet Zagreb, Zagreb, 2018.